

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

Date of mailing (day/month/year)
30 January 2002 (30.01.02)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MORITA, Kenichi  
5th Fl., Itabashi-chuo Bldg., 67-  
8, Itabashi 2-chome  
Itabashi-ku, Tokyo 173-0004  
JAPON

Applicant's or agent's file reference IAT-651	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP01/04526	International filing date (day/month/year) 30 May 2001 (30.05.01)

## 1. The following indications appeared on record concerning:

the applicant  the inventor  the agent  the common representative

Name and Address OKUYAMA, Norio 39-1533, Sakuradai, Aoba-ku Yokohama-shi, Kanagawa 227-0061 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

## 2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

the person  the name  the address  the nationality  the residence

Name and Address OKUYAMA, Tsuneo 39-1533, Sakuradai, Aoba-ku Yokohama-shi, Kanagawa 227-0061 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

## 3. Further observations, if necessary:

## 4. A copy of this notification has been sent to:

the receiving Office  
 the International Searching Authority  
 the International Preliminary Examining Authority

the designated Offices concerned  
 the elected Offices concerned  
 other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Y. KUWAHARA Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 特許協力条約

E P · U S P C T

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 I A T - 6 5 1	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP01/04526	国際出願日 (日.月.年) 30.05.01	優先日 (日.月.年) 30.05.00
出願人(氏名又は名称) 株式会社ヤトロン		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。この写しへは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

この国際出願に含まれる書面による配列表

この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2.  請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3.  発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は  出願人が提出したものを承認する。

次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は  出願人が提出したものを承認する。

第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1ヶ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第        図とする。  出願人が示したとおりである。

なし

出願人は図を示さなかった。

本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' G01N33/543, 33/531

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' G01N33/543, 33/531

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1992-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2001年
日本国登録実用新案公報	1994-2001年
日本国実用新案登録公報	1996-2001年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 58-144748 A (栄研化学株式会社) 29. 8月. 1983 (29. 08. 83) (ファミリーなし)	1-10
A	JP 11-23573 A (株式会社トクヤマ) 29. 1月. 1999 (29. 01. 99) (ファミリーなし)	1-10
Y	JP 63-298062 A (日立化成工業株式会社) 5. 12月. 1988 (05. 12. 88) (ファミリーなし)	1-10

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

18. 07. 01

## 国際調査報告の発送日

31.07.01

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之

(印)

2 J 9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3250

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP01/04526

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
Y	JP 61-182578 A (日立化成工業株式会社) 15. 8月. 1986 (15. 08. 86) (ファミリーなし)	1-10

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年12月6日 (06.12.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/92885 A1

(51) 国際特許分類: G01N 33/543, 33/531

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/04526

(22) 国際出願日: 2001年5月30日 (30.05.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-159729 2000年5月30日 (30.05.2000) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社  
ヤトロン (IATRON LABORATORIES, INC.) [JP/JP];  
〒101-0031 東京都千代田区東神田1丁目11番4号 Tokyo  
(JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 宮本敦史  
(MIYAMOTO, Atsushi) [JP/JP]. 沢井時男 (SAWAI,

(74) 代理人: 森田憲一 (MORITA, Kenichi); 〒173-0004  
東京都板橋区板橋二丁目67番8号 板橋中央ビル5階  
Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): JP, US.

(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,  
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイドスノート」を参照。

WO 01/92885 A1

(54) Title: IMMUNOLOGICAL LATEX TURBIDIMETRY METHOD AND REAGENT THEREFOR

(54) 発明の名称: 免疫学的ラテックス比濁分析方法及びその試薬

(57) Abstract: An immunological latex turbidimetry method for analyzing an antigen or an antibody contained in a sample to be analyzed which involves: (1) the step of bringing the sample likely containing the antigen or antibody to be analyzed into contact with protease-treated albumin; and (2) bringing the mixture obtained in the above step (1) into contact with latex particles carrying an antibody or an antigen specifically reacting with the antigen or antibody to be analyzed, and analyzing the turbidity caused by the latex aggregation reaction. A reagent for immunological latex turbidimetry which contains: (1) a first component containing protease-treated albumin; and (2) a second component containing latex particles carrying an antibody or an antigen specifically reacting with the antigen or antibody to be analyzed.

[統葉有]



---

(57) 要約:

(1) 分析対象抗原又は抗体を含む可能性のある被検試料と、プロテアーゼ処理したアルブミンとを接触させる工程；及び

(2) 前記工程(1)で得られた混合物と、前記分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子とを接触させ、ラテックス凝集反応によって発生する濁度を分析する工程

を含む、前記被検試料中の分析対象抗原又は抗体を分析する免疫学的ラテックス比濁分析方法を開示する。

また、(1)プロテアーゼ処理したアルブミンを含有する第1成分；及び

(2) 分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子を含有する第2成分

を含む、免疫学的ラテックス比濁分析用試薬を開示する。

## 明細書

## 免疫学的ラテックス比濁分析方法及びその試薬

## 技術分野

本発明は、抗原抗体反応を利用する免疫学的ラテックス比濁分析方法及び免疫学的ラテックス比濁分析試薬に関する。更に詳しくは、非特異的な凝集反応を軽減し、自動分析装置を用いた分析に好適に適用することができる免疫学的ラテックス比濁分析方法及び免疫学的ラテックス比濁分析用試薬に関する。なお、本明細書における前記「分析」には、分析対象抗原又は抗体の量を定量的又は半定量的に決定する「測定」と、分析対象抗原又は抗体の存在の有無を判定する「検出」との両方が含まれる。

## 背景技術

液状被検試料中の特定成分（例えば、分析対象抗原又は抗体）を定量的に分析する試薬として、抗原抗体反応を利用した免疫学的分析試薬がある。中でも、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子と、液状被検試料中の抗体又は抗原との抗原抗体反応に起因するラテックス粒子の凝集を吸光度や濁度の変化で分析する免疫学的ラテックス比濁分析方法は、自動分析装置を用いて簡単な操作で定量することができることから広く用いられている。

近年、上記のような自動分析装置を用いた分析においては、簡便且つ迅速に高感度の分析を行うことが望まれており、このような要望に応える免疫学的ラテックス比濁分析方法及びその試薬が求められている。

従来から、免疫学的ラテックス比濁分析用試薬においては、感度を上げるために、また、懸濁ラテックス粒子を分散させるために、更には、被検試料中のタンパク質等のラテックスへの非特異的な結合による非特異的な凝集を防ぐために、ウシ血清アルブミン（以下、BSAと称することがある）及び／又は熱変性BSAを添加することが行われている。これは、近年の食生活の変化などにより、BSAに対する抗体を持っている患者が散見されるからである。分析用試薬へのBSA

SAの添加は、患者の持つ抗BSA抗体を吸収する効果を示す。しかしながら、例えば、溶血連鎖球菌体成分（ストレプトリジンO；以下、SLOと称することがある）由来の抗原を担持したSLO抗体検出用免疫学的ラテックス比濁分析用試薬においては、熱変性したBSAを試薬に添加して非特異的な反応の吸収を行なっているものの、熱変性BSAの添加だけでは吸収しきれない非特異的反応を示す被検試料が多く存在し、従来から問題となっていた。

### 発明の開示

従って、本発明の課題は、分析対象抗原又は抗体との高特異性を保持したまま、非特異的反応の影響を排除し、改善することが可能な免疫学的ラテックス比濁分析方法とその試薬を提供することにあり、特には、自動分析装置を用いた分析に適用した場合に、簡便且つ迅速に高感度の分析が可能な免疫学的ラテックス比濁分析方法とその試薬を提供することにある。

前記課題は、本発明による、（1）分析対象抗原又は抗体を含む可能性のある被検試料と、プロテアーゼ処理したアルブミンとを接触させる工程；及び

（2）前記工程（1）で得られた混合物と、前記分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子とを接触させ、ラテックス凝集反応によって発生する濁度を分析する工程

を含む、前記被検試料中の分析対象抗原又は抗体を分析する免疫学的ラテックス比濁分析方法により解決することができる。

また、本発明は、（1）プロテアーゼ処理したアルブミンを含有する第1成分；及び

（2）分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子を含有する第2成分

を含む、免疫学的ラテックス比濁分析用試薬に関する。

### 発明を実施するための最良の形態

本発明では、免疫学的ラテックス比濁分析における非特異的反応軽減剤として、プロテアーゼ処理したアルブミン（好ましくはプロテアーゼ処理した血清アル

ブミン、より好ましくはプロテアーゼ処理したB S A) を使用することにより、試薬特異性を低下させることなく、ラテックス粒子の非特異的反応を防止することができる。

本明細書において、「免疫学的ラテックス比濁分析」とは、抗原(又は抗体)を担持したラテックス担体が、被検試料中の抗体(又は抗原)と接触した時に起る免疫反応に伴って凝集する現象を、光学的に(例えば、吸光度や濁度の変化を利用して)分析することを意味する。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析方法又は本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬を用いて分析することのできる被検試料は、分析対象である抗原又は抗体を含む可能性のある試料である限り、特に限定されるものではなく、例えば、臨床診断に一般的に用いられる生体由来液、例えば、血清、血漿、又は尿を挙げることができる。

本発明で用いるプロテアーゼ処理したアルブミンは、プロテアーゼ処理により断片化されたアルブミン(好ましくは血清アルブミン、より好ましくはB S A)である限り、特に限定されるものでない。なお、前記アルブミンには、天然供給源から生成したアルブミンだけでなく、リコンビナントアルブミン(好ましくはリコンビナントウシアルブミン)、又は部分合成アルブミンも含まれる。また、以下の説明は、好適な態様であるB S Aに沿って説明する。

前記プロテアーゼは、本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬の感度を低下させずに、且つ非特異的な凝集反応を軽減させることができるものである限り、特に限定されるものでなく、例えば、ペプシン、パパイン、又はトリプシン等を挙げることができ、これらのプロテアーゼを1種又は2種以上の組合せで用いることができる。これらのプロテアーゼの中でも、コストや安定性の面から、ペプシンを使用することが好ましい。例えば、B S Aを酸性条件下に保持し、そこにプロテアーゼを添加して処理することにより、プロテアーゼ処理B S Aを調製することができる。こうして得られたプロテアーゼ処理反応液は、精製せずにそのまま本発明で使用することができる。

本発明において、プロテアーゼ処理とは、天然アルブミンを複数のフラグメントに分解する処理を意味する。詳細には、アルブミンを2~10個程度(好まし

くは、4～8個程度)のフラグメントに分解する処理を意味し、例えば、血清アルブミンをペプシンで処理すると2～7個のフラグメントに分解することができ、この場合の各フラグメントの分子量は約5000～50000となることが知られている。また、本発明では、こうして得られたフラグメント混合物を個々のフラグメントに分離せず、フラグメント混合物のままで使用することもできるし、あるいは、個々のフラグメントに分離した後、それらのフラグメント複数個(例えば、2～9個)を組み合わせて使用することもできる。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析方法においては、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子(すなわち、ラテックス粒子懸濁液)と被検試料とを接触させる前に、前記被検試料とプロテアーゼ処理BSAとを接触させること以外は、通常の免疫学的ラテックス比濁分析方法をそのまま適用することができる。

被検試料とプロテアーゼ処理BSAとを接触させる際の前記プロテアーゼ処理BSAの濃度は、非特異的反応を抑制することができ、且つラテックス比濁反応自体への影響を与えない濃度である限り、特に限定されるものではないが、好ましくは0.1～1.5%、より好ましくは0.35～0.8%であることができる。なお、本明細書において、プロテアーゼ処理BSAの濃度を示す単位「%」は、「質量／体積% (w/v%)」の意味である。前記濃度が0.1%未満であると、非特異的反応を充分に抑制することができないことがある。また、前記濃度が1.5%を越えても、特に問題はないが、濃度を高くすることに伴う効果の上昇を期待することができないだけでなく、あまり高濃度になると、ラテックス比濁反応自体へ影響を与えることも考えられ、本発明の効果(すなわち、非特異的反応の抑制)を達成するためには、これ以上の添加はあまり意味がない。

本発明で用いる抗原又は抗体を担持したラテックス粒子としては、公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬に使用することのできるものであれば、特に制限なく使用することができる。

ラテックス粒子としては、従来法で使用されているラテックス粒子を使用することができ、例えば、ポリスチレン、スチレン-メタクリル酸共重合体、スチレン-グリシジル(メタ)アクリレート共重合体、又はスチレン-スチレンスルホン酸塩共重合体などのラテックス等の有機高分子物質の微粒子であるラテックス

粒子を使用することができる。ラテックス粒子の平均粒子径も、従来法で使用されているラテックス粒子の平均粒子径と同様であることができ、特に限定されるものではない。

また、ラテックス粒子に担持する抗原又は抗体としては、それぞれ分析対象である抗体又は抗原と抗原抗体反応を起こすものであれば特に限定されず、例えば、抗 $\beta$ 2-マイクログロブリン ( $\beta$ 2-M) 抗体、抗線維素分解産物D分画 (FDP-D) 抗体、抗線維素分解産物E分画 (FDP-E) 抗体、抗線維素分解産物DD分画 (FDP-DD) 抗体、抗アルブミン抗体、抗フェリチン抗体、抗 $\alpha$ -フェトプロテイン (AFP) 抗体、インシュリン、抗インシュリン抗体、並びにトレポネーマ・パリダム (TP)、 streptotriginO (STO)、及びB型肝炎ウイルス (HBV) の抗原又は抗体を使用することができる。

ラテックス粒子への抗原又は抗体の感作は、公知方法、例えば、物理的吸着法等により実施することができ、0.001~1質量%程度の量で抗原又は抗体を担持させたラテックス粒子を好適に使用することができる。

非特異的反応の原因の中では、BSAとの反応に起因する非特異的反応だけでなく、BSA消化物に起因する非特異的反応も、多く発生している。しかしながら、従来は、BSA消化物に対応する方法は知られていなかった。また、BSAの添加では、BSA消化物に対する効果は期待することができないか、あるいは充分とはいえない。従って、抗原抗体反応を実施する前の被検試料に、BSAだけでなく、プロテアーゼ処理BSAを接触させることにより、被検試料中に存在し、前記のBSA及びBSA消化物と反応する物質の一部分をマスキングし、BSA及びBSA消化物との反応に起因する非特異的反応を抑制することの意義は特に大きい。

従って、本発明では、従来、非特異的反応を抑制するために使用されていたアルブミン (好ましくは血清アルブミン、より好ましくはBSA) 及び/又は変性アルブミン (好ましくは変性血清アルブミン、より好ましくは変性BSA) に代えて、プロテアーゼ処理したアルブミンを使用することもできるし、あるいは、BSA及び/又は変性BSAと一緒に、プロテアーゼ処理したアルブミンを使用することもできる。

本発明で用いることのできる緩衝液は、公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬に使用することのできるものであれば、特に制限なく使用することができる。このような緩衝液としては、例えば、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液、又はグッド緩衝液等を挙げることができる。

本発明においては、本発明の効果を阻害しない範囲で、公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬で使用することのできる添加剤（例えば、安定化剤）を使用することができる。前記安定化剤としては、例えば、無機塩（例えば、塩化ナトリウム又はアジ化ナトリウム）、タンパク質（例えば、ウシ血清アルブミン）、又は塩化コリン等を挙げることができる。これらの成分の添加量は、特に限定されるものではないが、例えば、塩化ナトリウムを添加する場合には50～300mmol/Lの濃度で、アジ化ナトリウムの場合には0.01～1%の濃度で、ウシ血清アルブミンの場合には0.1～10%の濃度で、そして、塩化コリンの場合には0.1～30%の濃度で用いることが好ましい。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は、プロテアーゼ処理BSAと、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子とを含み、しかも、少なくとも2試薬系からなる。本発明においては、被検試料と前記ラテックス粒子とを接触させる前に、プロテアーゼ処理BSAと被検試料とを接触させる必要があるので、プロテアーゼ処理BSAは、少なくとも、抗原抗体反応を行う前に被検試料と接触させる試薬中に含有させる。プロテアーゼ処理BSAを含有する試薬と被検試料とを接触させた後で、抗原抗体反応を行うためにラテックス粒子含有試薬と被検試料と接触させる。このラテックス粒子含有試薬の中に、プロテアーゼ処理BSAを含有させることもできるし、あるいは、プロテアーゼ処理BSAを含有させないでおくこともできる。

一般に、従来公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子の懸濁液と被検試料安定化緩衝液とからなるが、本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は、プロテアーゼ処理BSAを更に含むものである。従って、プロテアーゼ処理BSAを少なくとも特定の試薬中に含有することを除けば、本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は、一般的に使用されている公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬と基本的に同じ構成であるこ

とができ、先に述べたように、従来公知の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬に用いることのできるラテックス粒子、抗原又は抗体、緩衝液、及び／又は添加剤を、本発明試薬においてもそのまま使用することができ、更には、非特異的反応を抑制するために使用されていたアルブミン（好ましくは血清アルブミン、より好ましくはBSA）及び／又は変性アルブミン（好ましくは変性血清アルブミン、より好ましくは変性BSA）を使用することができる。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬が2試薬系からなる場合には、例えば、被検試料安定化緩衝液とプロテアーゼ処理BSAとを含有する第1試薬（すなわち、第1成分）と、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子を含有する第2試薬（すなわち、第2成分）として構成することができる。

3試薬系とすることも可能であるが、試薬数が少なく、分析の際の操作を簡略化することができる点で、2試薬系として調製することが好ましい。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬におけるプロテアーゼ処理BSAの濃度は、本発明試薬に含有されるプロテアーゼ処理BSAと、被検試料とを接触させた際に、非特異的反応を抑制することができ、且つラテックス比濁反応自体への影響を与えない濃度である限り、特に限定されるものではない。例えば、被検試料安定化緩衝液とプロテアーゼ処理BSAとを含有する第1試薬と、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子を含有する第2試薬とからなる2試薬系の場合には、第1試薬中におけるプロテアーゼ処理BSAの含有量は、好ましくは0.1～1.5%、より好ましくは0.35～0.8%であることができる。前記含有量が0.1%未満であると、非特異的反応を充分に抑制することができないことがある。また、前記含有量が1.5%を越えても、特に問題はないが、濃度を高くすることに伴う効果の上昇を期待することができないだけでなく、あまり高濃度になると、ラテックス比濁反応自体へ影響を与えることも考えられ、本発明の効果（すなわち、非特異的反応の抑制）を達成するためには、これ以上の添加はあまり意味がない。

プロテアーゼ処理BSAの添加方法は、特に限定されない。例えば、被検試料安定化緩衝液とプロテアーゼ処理BSAとを含有する第1試薬と、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子を含有する第2試薬とからなる2試薬系の場合には、

前記の被検試料安定化緩衝液に所定量のプロテアーゼ処理 B S A を溶解させることができる。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬の使用態様は特に限定されるものではないが、本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は自動分析装置を用いた分析に特に適しており、自動分析用免疫学的ラテックス比濁分析用試薬として使用するのが好適である。中でも、ストレプトリジンO (S L O) 抗体の免疫学的ラテックス比濁分析にも特に適している。

すなわち、本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬の好適な態様としては

(A) 被検試料安定化緩衝液試薬中にプロテアーゼ処理 B S A を（好ましくは 0.1 ~ 1.5 % の量で）含む第 1 試薬と、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子の懸濁液（第 2 試薬）とからなる自動分析用免疫学的ラテックス比濁分析用試薬、又は

(B) 被検試料安定化緩衝液試薬中にプロテアーゼ処理 B S A を（好ましくは 0.1 ~ 1.5 % の量で）含む第 1 試薬と、S L O の抗原を担持したラテックス粒子の懸濁液（第 2 試薬）とからなる S L O 抗体検出用自動分析用免疫学的ラテックス比濁分析用試薬

等を挙げることができる。

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬の具体的な構成として、被検試料安定化緩衝液とプロテアーゼ処理 B S A とを含有する第 1 試薬と、抗原又は抗体を担持したラテックス粒子を含有する第 2 試薬とからなる 2 試薬系の場合を以下に例示する。なお、以下の例示における各物質の濃度は、試薬として好ましい範囲を例示するものであって、本発明を限定するものではない。

第 1 試薬：下記 (1) ~ (3) を含有する溶液

- (1) プロテアーゼ処理 B S A 0.1 ~ 1.5 %
- (2) 緩衝液 20 ~ 1000 mmol/L, pH 4 ~ 12
- (3) 塩化ナトリウム 50 ~ 300 mmol/L

第 2 試薬：下記 (4) ~ (6) を含有する懸濁液

- (4) 緩衝液 20 ~ 1000 mmol/L, pH 4 ~ 12

(5) 抗原又は抗体を担持したラテックス粒子 0.01~0.5 w/v%

(6) 塩化ナトリウム 50~300 mmol/L

ここで、第1試薬及び第2試薬中で用いる緩衝液としては、例えば、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液、又はグッド緩衝液等を使用することができる。また、前記第1試薬は、例えば、緩衝液にプロテアーゼ処理 BSA 0.1~1.5%を混合して第1試薬を調製することができる。

### 実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

#### 実施例1：プロテアーゼ処理 BSA の調製

ウシ血清アルブミン（シグマ社）500 mgを精製水 10 mL に加え、室温で 1 時間静置した後、スピナーバーで攪拌しながらギ酸を添加して pH 3.0 に調整した。これを室温で 30 分間静置した後、スピナーバーで攪拌しながらペプシン溶液（ペプシン濃度が 1 mg/mL である塩酸液 0.01 mol/L）167 μL を添加して、25°C の恒温槽に 30 分間静置した。この液をスピナーバーで攪拌しながらトリス溶液 2 mol/L で pH 7.0 に調製し、アジ化ナトリウムを 0.1% となるように添加し、プロテアーゼ処理 BSA を得た。

#### 実施例2：血清中のストレプトリジンO (SLO) 抗原の測定

##### (1) 第2試薬（ストレプトリジンO抗原担持ラテックス懸濁液）の調製

ポリスチレン粒子（ラテックス濃度=5%，平均粒子径=0.18 μm）懸濁液 38 mL にカルボジイミド 40 mg を添加し、これに、ホウ酸緩衝液（pH 8.2）10 mmol/L で 2.8 mg/mL に希釈したストレプトリジンO抗原液 20 mL を加えて混合した。4°C で一晩振とうした後、20%リジン溶液 9.5 mL を添加し、0.5 時間静置した。次いで遠心分離により得られた沈渣（ストレプトリジンO抗原担持ラテックス）に、ウシ血清アルブミン 0.5% を含む水溶液 190 mL を添加し、更に 0.5 時間静置した。次いで遠心分離により得られた沈渣（ストレプトリジンO抗原担持ラテックス）に、10 mmol/L ホウ酸緩衝液（pH 8.2）950 mL を加えて懸濁することにより、本発明の免

疫学的ラテックス比濁測定用試薬における第2試薬を調製した。

(2) 第1試薬(緩衝液)の調製

本発明の免疫学的ラテックス比濁測定用試薬における第1試薬として、塩化ナトリウム0.31mol/L、EDTA4.5mmol/L、ウシ血清アルブミン0.2%、ゼラチン0.1%、及び実施例1で調製したプロテアーゼ処理BSA[最終濃度(第1試薬及び第2試薬の等量系)=0.4%]0.8%を含むトリス緩衝液(pH8.2)0.17mol/Lを調製した。

比較用として、本発明による前記の第1試薬からプロテアーゼ処理BSAを除いたこと以外は同一の組成からなる比較用緩衝液(比較用第1試薬)を調製した。

(3) 液状被検試料の調製

従来の免疫学的ラテックス比濁分析法による測定において測定上限(600IU/mL)以上の抗SLO抗体値が得られたものの、ランツランダル(Rantz-Randal)法による測定では正常と認められた血清4種類を、非特異的被検試料として使用した。これらの非特異的被検試料では、非特異的凝集が原因で、抗SLO抗体高値の結果が得られたと考えられる。一方、コントロール被検試料としては、ヒト正常血清を使用した。

(4) 自動分析装置による測定

実施例2(2)で調製した本発明による第1試薬135μlに、実施例2(3)で調製した液状被検試料2μlをガラスセル中で添加攪拌した後、37℃で約5分間静置した。次いで実施例2(1)で調製した第2試薬135μlを添加攪拌し、30秒後から190秒までの波長700nmにおける光学密度変化量を測定した。以上の操作には、自動分析装置日立7170S型(日立製作所)を用いた。

比較例として、本発明による前記第1試薬の代わりに、実施例2(2)で調製した比較用緩衝液(比較用第1試薬)を用いること以外は、前記操作を繰り返した。

結果を表1に示す。比較例では機械的に吸光度変化(dABS)を測定できなかつたのに対し、本発明試薬を用いる本発明方法では、正確にSLOを測定する。

ことができた。

表1

	実施例 (IU/mL)	比較例 (IU/mL)
正常血清	24.2	26.2
非特異的被検試料 1	47.8	4774 (吸光度オーバー)
非特異的被検試料 2	39.1	11136 (吸光度オーバー)
非特異的被検試料 3	30.3	5300 (吸光度オーバー)
非特異的被検試料 4	47.8	8391 (吸光度オーバー)

#### 産業上の利用可能性

本発明の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬は、高い試薬感度を有しており、しかも、非特異的反応の軽減効果を有する。従って、本発明によれば、非特異的反応が原因の非特異凝集による誤測定を減らすことができ、しかも、自動分析装置を用いた高感度な分析を簡便且つ迅速に行うことが可能である。

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変形や改良は本発明の範囲に含まれる。

## 請 求 の 範 囲

1. (1) 分析対象抗原又は抗体を含む可能性のある被検試料と、プロテアーゼ処理したアルブミンとを接触させる工程；及び  
(2) 前記工程(1)で得られた混合物と、前記分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子とを接触させ、ラテックス凝集反応によって発生する濁度を分析する工程  
を含む、前記被検試料中の分析対象抗原又は抗体を分析する免疫学的ラテックス比濁分析方法。
2. 前記アルブミンが血清アルブミンである、請求項1に記載の免疫学的ラテックス比濁分析方法。
3. 前記アルブミンがウシ血清アルブミンである、請求項2に記載の免疫学的ラテックス比濁分析方法。
4. 前記プロテアーゼがペプシンである、請求項1に記載の免疫学的ラテックス比濁分析方法。
5. 分析対象抗体が抗ストレプトリジンO抗体であり、ラテックス粒子に担持する抗原が、ストレプトリジンO抗原である、請求項1に記載の免疫学的ラテックス比濁分析方法。
6. (1) プロテアーゼ処理したアルブミンを含有する第1成分；及び  
(2) 分析対象抗原又は抗体に特異的に反応する抗体又は抗原を担持したラテックス粒子を含有する第2成分  
を含む、免疫学的ラテックス比濁分析用試薬。
7. 前記アルブミンが血清アルブミンである、請求項6に記載の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬。
8. 前記アルブミンがウシ血清アルブミンである、請求項7に記載の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬。
9. 前記プロテアーゼがペプシンである、請求項6に記載の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬。
10. 分析対象抗体が抗ストレプトリジンO抗体であり、ラテックス粒子に担持

する抗原が、 streptococcal O 抗原である、請求項 6 に記載の免疫学的ラテックス比濁分析用試薬。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**